Iranian Food Science and Technology
Research Journal
Homepage: https://ifstrj.um.ac.ir

Research Article
Vol. 21, No. 1, Mar.-Apr., 2025, p. 103-117

Investigating the Physicochemical and Antimicrobial Properties of Gelatin-carboxymethyl Cellulose Edible Film Containing *Dorema aucheri* Extract

E. Ahmadi[1], S. Panahi [2], A. Karimzadeh[2], H. Hassanzadeh[3], M. Hosseini[4*]

1, 2, 3 and 4- Ph.D., Bachelor Student, Assistant Professor and Associate Professor, Department of Food Science and Hygiene, Faculty of Veterinary Science, Ilam University, Ilam, Iran, respectively.
(*- Corresponding Author Email: m.hosseini@ilam.ac.ir)

Received: 25.09.2024 Revised: 22.10.2024 Accepted: 09.11.2024 Available Online: 16.02.2025	**How to cite this article:** Ahmadi, E., Panahi, S., Karimzadeh, A., Hassanzadeh, H., & Hosseini, M. (2025). Investigating the physicochemical and antimicrobial properties of gelatin-carboxymethyl cellulose edible film containing *Dorema aucheri* extract. *Iranian Food Science and Technology Research Journal, 21*(1), 103-117. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.22067/ifstrj.2024.89620.1371

Introduction

In recent years, with increasing concerns about food safety and environmental issues related to waste generated by non-degradable plastic packaging, study on novel biodegradable packaging materials has attracted the attention of researchers. Active packaging based on biopolymers, which offers a sustainable and environmentally friendly way to improve food shelf life, considered one of such packaging technologies. Edible coatings and films, are a thin layer of edible compounds and biopolymers applied on the surface of foodproducts that play important role to control physicochemical, microbial and physiological changes in food. Gelatin is obtained from partial degradation of collagen. Due to its availability, relatively cheap price, biodegradability and good properties such as its excellent ability to form a film and reduce the transfer of oxygen, oil and moisture, it is highly regarded as an edible film and has antimicrobial and antioxidant activity. In general, the gelatin film showed high water absorption due to the presence of several hydrophilic groups, which may weaken the mechanical properties and water vapor transport of the film. For this reason, the combination of gelatin with other biopolymers such as chitosan, starch and gum is a suitable method to eliminate the drawbacks of gelatin-based films.

Materials and Methods

To prepare the composite film of the four formulations studied in this research, gelatin powder (3% by weight/volume of water) and glycerol (30% by weight/volume of gelatin powder) were added to deionized water and magnetically stirred for 10 minutes at 2400 RPM. To prepare an aqueous suspension of carboxymethyl cellulose, powder (CMC 2% by weight/volume of water) and glycerol (30% by weight/weight of carboxymethyl cellulose powder) were mixed with deionized water. This suspension was heated to boiling temperature and kept at this temperature for 15 minutes and then kept for 30 minutes at 90°C water bath and stirred. The G/CMC coating was also prepared by dissolving 40 grams of gelatin, 10 grams of carboxymethyl cellulose and glycerol (30% by weight/weight of polymer materials) in one liter of water. The mixture was stirred for 1 hour at 60 degrees Celsius. The mixture was then dried at 25-35 degrees Celsius. Different concentrations of the extract (0, 0.5, 0.75, 1.5 and 3.25%) were added to the mixture and stirred for 2 minutes. In the next step, the mixture was added to a plastic Petri dish with a diameter of 15 cm and placed under a vacuum hood for 1 hour. Then it was transferred to a fan oven and kept for 20 hours. In the final stage, the dried films were placed in a desiccator at room temperature for testing. The effect of different concentrations of *Dorema aucheri* extract for the production of edible films on the physicochemical, mechanical, antioxidant and antimicrobial properties was analyzed with one-way analysis of variance (ANOVA) and comparing the average data was performed based on Duncan's multi-range test using SPSS26 software at probability level of 0.05.

https://doi.org/10.22067/ifstrj.2024.89620.1371

Results and Discussion

The highest tensile strength and elongation at break point and Young's modulus in the treatment was 1.5%. In all concentrations, solubility and permeability were significant ($p<0.05$). The lowest solubility was observed in the control. The highest permeability and turbidity were observed in the treatment of 1.5% *Dorema aucheri* extract. In all edible film treatments, the antioxidant property using DPPH radicals was significant ($p<0.05$). The results of the evaluation of the antimicrobial activity of the film with the help of diffusion discs showed that the maximum diameter of the inhibition halo in the concentration of 3.25% was related to *Escherichia coli* with an average halo diameter of 5.33 mm. Average halo diameter for *Pseudomonas aeruginosa*and *Staphylococcus aureus* was reported as 4 mm and 3.99 mm, respectively. The overall results showed that the addition of *Dorema aucheri* extract at a concentration of 1.5% produced films that, in addition to inhibiting the growth and proliferation of bacteria, have strength and can be used for perishable food.

Keywords: Carboxymethyl cellulose, *Dorema aucheri*, Film, Gelatin

نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
https://ifstrj.um.ac.ir

مقاله پژوهشی

جلد ۲۱، شماره ۱، فروردین-اردیبهشت ۱۴۰۴، ص. ۱۱۷-۱۰۳

بررسی ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و ضدمیکروبی فیلم خوراکی ژلاتین-کربوکسی متیل سلولز حاوی عصاره کندل کوهی (*Dorema aucheri*)

الهام احمدی[۱]- سارا پناهی[۲]- امیرحسین کریم زاده[۲]- حامد حسن زاده[۳]- محمدیار حسینی[۴*]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۷/۰۴
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۸/۱۹

چکیده

فیلم‌های خوراکی به‌عنوان مواد جدید تجزیه‌پذیر در بسته‌بندی مواد غذایی، نقش مهمی در رفع نگرانی‌های مصرف‌کنندگان در مورد آلودگی محیط‌زیست و آلودگی مواد غذایی دارند. با توجه به تمایل استفاده زیاد فیلم‌های بسته‌بندی زیست‌تخریب‌پذیر و افزایش قابلیت ضد میکروبی آنها در این مطالعه، فیلم فعال بسته‌بندی زیست‌تخریب‌پذیر بر پایه ژلاتین و کربوکسی متیل سلولز در غلظت‌های مختلف (غلظت‌های ۰، ۰/۵، ۰/۷۵، ۱/۵ و ۳/۲۵ درصد) حاوی عصاره کندل کوهی تهیه شدند. ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی فیلم‌های فعال تولیدی مانند (حلالیت، نفوذپذیری به بخار، ضخامت و کدورت)، آزمایشات مکانیکی (ازدیاد طول تا نقطه شکست، مقاومت به کشش و مدول یانگ)، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و فعالیت ضدمیکروبی در نظر گرفته شد. اثر غلظت‌های (۰، ۰/۵، ۰/۷۵، ۱/۵ و ۳/۲۵ درصد) عصاره کندل برای تولید فیلم‌های خوراکی روی ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی، مکانیکی، آنتی‌اکسیدانی و ضدمیکروبی با طرح آنالیز واریانس یک‌طرفه (ANOVA) و مقایسه میانگین داده‌ها برا ساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن با استفاده از نرم‌افزار $SPSS_{26}$ در سطح احتمال (۰/۰۵) انجام گرفت. بالاترین میزان استحکام کششی و ازدیاد طول در نقطه شکست و مدول یانگ در تیمار ۰/۵ درصد بود. در تمامی غلظت‌ها حلالیت و نفوذپذیری معنی‌دار بود (p<۰/۰۵). و کمترین میزان حلالیت و ضخامت در تیمار شاهد مشاهده شد. بیشترین نفوذپذیری و کدورت در تیمار(٪ ۱/۵) عصاره کندل مشاهده شد. در تمامی تیمارهای فیلم خوراکی خاصیت آنتی‌اکسیدانی با استفاده از رادیکال‌های DPPH معنی‌دار بود (p<۰/۰۵). نتایج ارزیابی فعالیت ضدمیکروبی فیلم با کمک روش دیسک‌های انتشاری نشان داد که بیشترین قطر هاله بازدارندگی در غلظت (٪ ۳/۲۵) مربوط به *Escherichia coli* متوسط قطر هاله ۵/۳۳ mm بود. متوسط قطر هاله برای *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* به‌ترتیب ۴ mm و ۳/۹۹ mm گزارش شد. نتایج کلی نشان داد که افزودن عصاره کندل در غلظت (٪ ۱/۵) باعث تولید فیلم‌هایی گردید که علاوه بر مهار و تکثیر باکتری‌ها دارای خواص مکانیکی مطلوب موجب بهبود خصوصیات آنتی‌اکسیدانی فیلم ترکیبی شد و همچنین می‌تواند به‌عنوان یک پوشش مناسب برای محافظت مواد غذایی استفاده گردند.

واژه‌های کلیدی: ژلاتین، فیلم، کربوکسی متیل سلولز، کندل کوهی

مقدمه

در سال‌های اخیر، با افزایش نگرانی‌ها در مورد ایمنی مواد غذایی و مسائل زیست‌محیطی مربوط به زباله‌های ایجاد شده توسط بسته‌بندی‌های پلاستیکی تجزیه‌ناپذیر، تحقیقات بر روی مواد بسته‌بندی مدرن زیست‌تخریب‌پذیر توجه محققان را به خود جلب کرده است.

یکی از این فناوری‌های مدرن بسته‌بندی، بسته‌بندی فعال مبتنی بر پلیمرهای زیستی است، که راهی پایدار و سازگار با محیط‌زیست برای بهبود ماندگاری مواد غذایی ارائه می‌دهد (Roy & Rhim, 2021)

۱، ۲، ۳ و ۴- به‌ترتیب دکتری، دانشجوی کارشناسی، استادیار و دانشیار علوم و صنایع غذایی، گروه بهداشت و صنایع غذایی، دانشکده پیرادامپزشکی، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران
(*- نویسنده مسئول: Email: m.hosseini@ilam.ac.ir)

https://doi.org/10.22067/ifstrj.2024.89620.1371

پوشش‌ها و فیلم‌های خوراکی، لایه‌های نازکی از ترکیبات و بیوپلیمرهای خوراکی می‌باشند که در سطح مواد غذایی یا در بین ترکیبات آنها قرار می‌گیرند و استفاده از آنها یکی از روش‌های مهم جهت کنترل تغییرات فیزیکوشیمیایی، میکروبی و فیزیولوژیکی در مواد غذایی محسوب می‌شوند (Dicka *et al*., 2015). ژلاتین[1] (G) از تخریب جزئی کلاژن به‌دست می‌آید. به‌دلیل در دسترس بودن، قیمت نسبتا ارزان، زیست تخریب‌پذیری و خواص خوب به‌دلیل توانایی عالی در تشکیل فیلم و کاهش انتقال اکسیژن، روغن و رطوبت، به‌عنوان یک فیلم خوراکی بسیار مورد توجه قرار گرفته است و دارای فعالیت ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی است (Cao *et al*., 2007).

به‌طور کلی، فیلم ژلاتین به‌دلیل وجود چندین گروه آب‌دوست، جذب آب بالایی را نشان داد که ممکن است خواص مکانیکی و انتقال بخار آب فیلم را تضعیف کند. به همین دلیل، ترکیب ژلاتین با پلیمرهای زیستی دیگر مانند کیتوزان، نشاسته و صمغ، روشی مناسب برای از بین بردن کاستی‌های فیلم‌های مبتنی بر ژلاتین است (Abdollahi & Raoufi, 2022; Tongdeesoontorn & Rawdkuen, 2019). درپژوهش‌های مربوط به ساخت و ارزیابی فیلم‌های خوراکی در سال‌های اخیر استفاده از انواع اسانس مانند (اسانس آویشن، میخک، پونه کوهی، دارچین، زنجبیل و ریحان) برای محافظت میکروبی، به تعویق انداختن فساد مواد غذایی (شیمیایی و میکروبی) و کاهش ضایعات غذایی جایگاه قابل توجهی به‌دست آورده‌اند (Prakash *et al*., 2014; Taheri *et al*., 2015; Tongeesoontorn *et al*., 2016). کربوکسی متیل سلولز[2] (CMC) در صنعت بسته‌بندی به‌عنوان افزایش‌دهنده ویسکوزیته و عا مل پیوند استفاده می‌شود. ویژگی CMC برای ایجاد فیلم در صنایع غذایی به‌دلیل شفافیت املاح، اتصال به آب و خواص ویسکوزیته آن است (Tongdeesoontorn *et al*., 2011). فیلم‌های آماده شده با این پلیمر معمولاً سد خوبی در برابر گازهایی با خواص مکانیکی متوسط تا خوب هستند اما در برابر رطوبت آسیب‌پذیر هستند (Nazmi *et al*., 2020؛Biswal & Singh, 2004). با وجود در دسترس بودن و هزینه پایین CMC، مشکل اصلی پوشش‌های CMC، مهار نسبتا ضعیف آن در برابر بخار آب است (Yoo & Krochta, 2011). برخی از موا د کاربردی همراه با اجزای اصلی فیلم‌های خوراکی می توانند برای بهبود کارایی فیلم برای حفظ محصولات غذایی استفاده شوند. امروزه توجه اصلی بر روی ترکیبات طبیعی ضد میکروبی متمرکز شده است که رشد میکروب‌ها را متوقف کرده و کیفیت محصولات غذایی را بهبود می‌بخشد. ترکیبات آب‌دوست استخراج شده از گیاهان، آنها را قادر می‌سازد تا به غشای لیپیدی باکتری‌ها و قارچ‌ها نفوذ کرده و با برهم زدن ساختار لیپیدی سلول، منجر به نفوذ و نشت آنها شوند. نشت گسترده مولکول‌ها و یون‌های حیاتی از باکتری، منجر به کشتن این میکروارگانیسم‌ها می‌شود. علاوه بر این، ترکیبات اصلی استخراج شده از گیاهان دارای ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی و ضد انگلی مطلوبی هستند. مطالعات مختلف اهمیت گیاهان دارویی را برای حذف حشرات، انگل‌های گیاهی و انسانی نشان داده است. مکانیسم‌های اصلی سیستم تنفسی و جذب پوست را مختل می‌کنند که در نتیجه منجر به مرگ حشرات و انگل‌ها می‌شود (Gulluce *et al*., 2007).

جنس *Dorema* متعلق به خانواده Apiaceae است که از شش گونه در فلور ایران تشکیل شده است. *Dorema aucheri* گونه‌ای بومی چند ساله ایران است که در کوه‌های مرتفع می‌روید. این گیاه دارویی در مناطق تحت پوشش استان کهگیلویه و بویراحمد و فارس در جنوب غربی ایران به نام «بیلهار» شناخته می‌شود. اثرات ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی دارد (Eftekhari *et al*., 2019).

تکنولوژی فیلم‌های خوراکی علاوه بر داشتن فوایدی مانند قابلیت خوردن، ساختمان ظاهری زیبا، سازگاری با محیط، غیرسمی و ارزان بودن، مواد غذایی را از آسیب‌های فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی حفظ می‌کند. با توجه به تقاضای مصرف‌کنندگان جهت استفاده از مواد خوراکی با کیفیت بالا و نگرانی آنها به‌دلیل مشکلات ناشی از مصرف نگهدارنده‌های مصنوعی، ایدۀ استفاده از فیلم‌ها و پوشش‌های زیست کافت با خواص آنتی‌اکسیدانی و ضدمیکروبی بالا به‌عنوان جایگزینی مناسب قوت گرفته است (Lui *et al*., 2012). در سال‌های اخیر اثر دی آلدهید کربوکسی متیل سلولز بعنوان عامل پیوند عرضی در ساختار فیلم پروتئینی ژلاتین و در استفاده از کربوکسی متیل سلولز در پیوند با ژلاتین و کلاژن در صنعت پزشکی مورد بررسی قرار گرفته است (Leonardis *et al*., 2010)، با این حال استفاده از کربوکسی متیل سلولز در ترکیب با ژلاتین بعنوان پوشش خوراکی کم‌تر مورد پژوهش بوده است هدف از این پژوهش بررسی تأثیر عصاره کندل بر ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی، مکانیکی، آنتی‌اکسیدانی و فعالیت ضدمیکروبی فیلم خوراکی ژلاتین/ کربوکسی متیل سلولز می‌باشد.

مواد و روش‌ها

مواد

ژلاتین، کربوکسی متیل سلولز و مواد شیمیایی مورد استفاده در این تحقیق ساخت شرکت مرک می‌باشند. کندل کوهی (*Dorema aucheri*) از دانشکده کشاورزی دانشگاه ایلام تهیه شد.

۱- Gelatin

۲- Carboxymethyl cellulose

استخراج عصاره آبی

استخراج عصاره از کندل کوهی به روش تقطیر با آب با استفاده از دستگاه کلونجر به‌مدت ۳ ساعت در دمای ۹۰ درجه سلسیوس انجام شد. سپس عصاره جمع‌آوری شد و در دمای ۴ درجه سلسیوس در شیشه تیره نگه‌داشته شد. غلظت‌های (۰، ۰/۵، ۰/۷۵، ۱/۵ و ۳/۲۵ درصد) در فیلم‌ها استفاده می‌شود.

تهیه فیلم ترکیبی

جهت تهیه محلول ژلاتین، پودر ژلاتین (۳ درصد وزنی/حجمی آب) و گلیسرول (۳۰ درصد وزنی/وزنی پودر ژلاتین) به آب دیونیزه اضافه و با هم زن مغناطیسی به‌مدت ۱۰ دقیقه و با دور ۲۴۰۰ RPM هم زده شد (NurHanani *et al.*, 2012). برای تهیه‌ی سوسپانسیون آبی کربوکسی متیل سلولز، ۲ درصد نیز پودر CMC (۲ درصد وزنی / حجمی آب) و گلیسرول (۳۰ درصد وزنی/ وزنی پودر کربوکسی متیل سلولز) با آب د یونیزه مخلوط شد. این سوسپانسیون برای مدت ۳۰ دقیقه در حمام آب ۹۰ درجه سلسیوس نگهداری و همزده شد (Oluwaseun *et al.*, 2013). تهیه پوشش ژلاتین- کربوکسی متیل سلولز نیز با مخلوط کردن ۴۰ گرم ژلاتین، ۱۰ گرم کربوکسی متیل سلولز و ۰/۱٪ توئین ۸۰ (۳۰ درصد وزنی/وزنی مواد پلیمری) در یک لیتر آب تهیه شد و به‌مدت ۴ دقیقه هم زده شد. سپس مخلوط در دمای ۲۵-۳۵ درجه سلسیوس خنک شد.

سپس عصاره باغلظت‌های مشخص شده به مخلوط اضافه و با مدت ۲ دقیقه همزده شد. در مرحله بعدی ۱۰ میلی‌لیتر به پتری‌دیش پلاستیکی با قطر ۱۵ سانتی‌متر اضافه و به‌مدت ۱ ساعت زیر هود تحت خلا قرار داده شد. سپس به آون فن‌دار انتقال داده شد و به‌مدت ۲۰ ساعت نگه داشته شد. در مرحله پایانی فیلم‌های خشک در دسیکاتور در دمای محیط جهت انجام آزمایش گذاشته شدند.

آزمون‌ها

اندازه‌گیری ضخامت فیلم‌ها

تعیین ضخامت فیلم‌ها برای آزمایشات مکانیکی، نفوذپذیری به بخار آب و خواص نوری امری ضروری می‌باشد. ضخامت فیلم‌های تولیدی توسط میکرومتر (Mitutoyo ژاپن) با دقت نزدیک به ۰/۰۰۰۱ میلی‌متر و در ۱۰ نقطه مختلف از هر نمونه اندازه‌گیری شد و در نهایت مقدار میانگین ضخامت محاسبه شده و در تعیین قدرت کششی، نفوذپذیری به بخار آب و کدورت استفاده گردید (Khanzadi *et al.*, 2015).

حلالیت

نمونه‌های فیلم (۲ سانتی‌متر× ۲ سانتی‌متر) به‌مدت یک شب در دمای ۱۰۵ °C توسط آون (memmert آلمان) خشک و توزین (W_1) شدند. سپس نمونه‌ها در ۲۵ میلی‌لیتر آب مقطر به‌مدت ۲۴ ساعت در دمای ۲۵°C غوطه‌ور شدند. نمونه‌های فیلم بازیابی شد، در دمای ۱۰۵ °C برای محاسبه وزن نهایی ماده خشک (W2) خشک شدند حلالیت در آب نمونه‌های فیلم با توجه به رابطه زیر تعیین شد: که در آن W ۲ وزن خشک اولیه و W ۲ وزن خشک نهایی می‌باشند (Alizadeh *et al.*, 2022).

$$\text{حلالیت} = \frac{(W1 - W2)}{W1} \times 100$$

نفوذپذیری نسبت به بخار آب (تراوش‌پذیری)

نفوذپذیری نسبت به بخار آب به روش وزن‌سنجی انجام شد (ASTM-E96-95, 1995). در یک ظرف ۱۴ میلی‌لیتری، ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر ریخته شد و توسط فیلم‌های مورد بررسی با مساحت ۱/۵ سانتی‌متر مربع دربندی شد. بطری دربندی شده ابتدا توزین گردید و در محفظه دارای سیلیکاژل با میزان رطوبت نسبی و دمای مشخص قرار گرفت. هر ۱۲ ساعت و به‌مدت ۳ روز توزین ظرف انجام شد. سپس نمودار تغییرات وزن ظرف در برابر زمان رسم شد. شیب آن محاسبه و میزان نفوذپذیری نسبت به رطوبت با فرمول زیر محاسبه شد (Hossini *et al.*, 2023).

$$WVP^{1}(gm^{-1}pa^{-1}s^{-1}) = \frac{W \times X}{A \times t \times \Delta p}$$

w میزان اختلاف وزن بطری، X ضخامت فیلم ژلاتینی، A مساحت فیلم ژلاتینی (m^2)، t زمان بر حسب ثانیه و Δp اختلاف فشار بخار اتمسفر دو سمت فیلم، ظرف حاوی آب خالص و محفظه دارای سلیکاژل است.

اندازه‌گیری ویژگی‌های نوری

برای تعیین ویژگی‌های نوری فیلم‌ها از دستگاه اسپکتروفتومتر (Shimadzu ژاپن) استفاده شد. به این منظور نمونه‌های فیلم به ابعاد ۴۰×۹ میلی‌متر بریده شده و داخل سلول اسپکتوفوتومتر قرار گرفته شدند. یک نمونه سلول خالی نیز به‌عنوان شاهد در نظر گرفته شد. میزان عبور نور در طول موج‌های مختلف و هم چنین جذب آن در طول موج ۵۰۰ نانومتر بررسی شد از فرمول زیر برای اندازه‌گیری کدورت محاسبه شد (Hossini *et al.*, 2023).

---
[1]- water vapor permeatability

ضخامت فیلم ×میزان جذب در ۵۰۰ نانومتر = کدورت فیلم

ویژگی‌های مکانیکی

خواص مکانیکی فیلم‌ها شامل قدرت کششی (مگاپاسکال)، افزایش طول تا نقطه شکست (درصد) و مدول یانگ (مگاپاسکال) می‌باشد. این ویژگی‌ها بر اساس استاندارد ASTM D882-00 (ASTM, 2000) و با استفاده از دستگاه بافت‌سنج (Stable Micro System TA.XT.PLUS TA-Plus انگلستان) محاسبه شد. ابتدا فیلم‌ها به ابعاد ۲۵/۴ میلی‌متر عرض ۷۵ میلی‌متر طول بریده شد. سپس بین دو فک دستگاه بافت‌سنج با فاصله اولیه ۵۰mm و سرعت حرکت فک ۰/۸ میلی‌متر بر ثانیه قرار داده شدند و ویژگی‌های مکانیکی شامل قدرت کششی، درصد افزایش طول تا نقطه شکست (تغییر طول نمونه تقسیم بر طول اولیه ضرب در ۱۰۰) و هم چنین مدول یانگ از روی منحنی نیرو بر حسب تغییر شکل محاسبه گردید.

خواص آنتی‌اکسیدانی

این روش یکی از روش‌های مرسوم برای سنجش فعالیت آنتی‌اکسیدانی می‌باشد. این روش مبتنی بر به دام‌اندازی میزان رادیکال‌های آزاد ماده‌ای به نام دی فنیل ۱ پیکریل هیدرازیل (DPPH) با استفاده از عوامل آنتی‌اکسیدانی می‌باشد که سبب کاهش میزان جذب در طول موج ۵۱۷ نانومتر می‌شود. موقعی‌که محلول DPPH با ماده‌ای که می‌تواند دهنده اتم هیدروژن باشد مخلوط می‌شود فرم احیای رادیکال تشکیل می‌شود که همراه با کاهش رنگ می‌باشد. این واکنش سبب از بین رفتن رنگ بنفش می‌شود که شاخص آن تشکیل باند جذبی در ۵۱۷ نانومتر می‌باشد. فعالیت آنتی‌اکسیدانی فیلم‌های ژلاتین توسط تغییر رنگ رادیکال DPPH از بنفش به هیدرازین‌های زرد رنگ اندازه‌گیری شد. برای این منظور ۳۰ میلی‌گرم از هر فیلم در نسبت‌های برابر آب مقطر و متانول (نسبت ۳ به ۳) حل شد. پس از حل شدن تمام فیلم‌ها، به‌مدت ۱۵ دقیقه با دور ۴۰۰۰ rpm سانتریفوژ (Universal آلمان) شد. سپس به‌مدت ۱۲ ساعت در دمای ۴ درجه سلسیوس نگه‌داشته شد (۱ شب استراحت) و دوباره به‌مدت ۱۵ دقیقه با دور ۴۰۰۰ rpm سانتریفوژ شد. سپس ۱ میلی‌لیتر از قسمت رویی محلول سانتریفوژ شده هر فیلم با ۴ میلی‌لیتر محلول ۰/۱ میلی‌مولار متانولی DPPH مخلوط شد و به‌مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی در دمای اتاق نگهداری شد. سپس جذب هر یک در ۵۱۷ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد (A_s). به‌عنوان شاهد، ۱ میلی‌لیتر از محلول آب و متانول (۳ میلی‌لیتر آب مقطر+ ۳ میلی‌لیتر متانول) با ۴ میلی‌لیتر محلول ۰/۱ میلی‌مولار متانولی DPPH به‌مدت ۳۰ دقیقه در انکوباتور (Memmert آلمان) در دمای اتاق نیز نگهداری شد و جذب آن در ۵۱۷ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر (Shimadzu ژاپن) اندازه‌گیری شد (Ekrami *et al*., 2019).

(A_b) در نهایت فعالیت مهار رادیکال DPPH مطابق معادله زیر محاسبه شد.

$$\text{DPPH scavenging activity}\left(\text{درصد}\right) = \frac{(A_b - A_s)}{A_b} \times 100$$

تعیین فعالیت ضد میکروبی فیلم‌ها

فعالیت ضد میکروبی فیلم‌ها به روش سنجش انتشار دیسک تعیین گردید، بدین‌صورت که محیط آگار آبگوشت قلب و مغز با ۱۰۰ میکرولیتر کشت باکتری که حاوی ۱×۱۰^{۷} باکتری در هر میلی‌لیتر بود تلقیح گردید، سپس دیسک‌هایی از فیلم‌های مذکور حاوی غلظت‌های موردنظر از عصاره کندل که به قطر ۹ میلی‌متر پانچ شده بودند در مرکز پلیت قرار داده شد و پلیت‌ها به‌مدت ۲۴ ساعت در ۳۷ درجه سلسیوس گرم خانه‌گذاری شدند و ناحیه ممانعت از رشد به‌صورت هاله شفاف اطراف فیلم‌ها با کولیس دیجیتال (اینسایز چین) برحسب میلی‌متر اندازه‌گیری شد (Shokri *et al*., 2010).

تجزیه و تحلیل آماری

تمامی آزمایشات در سه تکرار (n=۳) با نمونه‌گیری کاملاً تصادفی مطابق جدول ۱ انجام شد. آنالیز واریانس یکطرفه (ANOVA) و مقایسه میانگین داده‌ها براساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن با استفاده از نرم‌افزار SPSS26 در سطح احتمال ۰/۰۵ انجام گرفت.

جدول ۱- تیمار فیلم‌های خوراکی

Table 1- Edible films treatments

کندل کوهی *Dorema aucheri* (%)	تیمار Treatment
0	1
0.5	2
0.75	3
1.5	4
3.25	5

نتایج و بحث

خواص فیزیکی فیلم‌های تولیدی (حلالیت، کدورت، ضخامت و نفوذپذیری به بخار آب) مقدار حلالیت بین همه غلظت‌های عصاره مورد استفاده معنی‌دار بود (p<۰/۰۵). به‌طور کلی در تمامی تیمارها درصد حلالیت فیلم ترکیبی کمتر از شاهد شد. بیشترین حلالیت مربوط به تیمار شاهد با درصد حلالیت ۱۳٪ می‌باشد و با افزایش غلظت عصاره

کندل در غلظت ۱/۵٪ و ۳/۲۵٪ حلالیت به‌ترتیب به ۸/۴٪ و ۶/۰۱٪ کاهش یافت. تفاوت در میزان حلالیت، به غلظت و ماهیت گروه‌های عاملی ترکیبات بستگی دارد. افزودن اسانس به ترکیب فیلم، باعث می‌شود که اجزای غیرقطبی اسانس با دامنه هیدروفیل ژلاتین و هیدروکسی متیل سلولز در تعامل بوده و باعث افزایش آبگریزی و کاهش حلالیت فیلم حاصل گردد. حلالیت آب فیلم‌ها با گروه‌های OH موجود در پلیمر مرتبط است که می‌تواند پیوندهای هیدروژنی بین اجزا برقرار کند. به‌دلیل ماهیت آبدوست ژلاتین و فراوانی گروه‌های هیدروکسیل (OH) در مولکول‌های ژلاتین میل ترکیبی زیادی با مولکول‌های آب دارد. ولی ترکیب ژلاتین با کربوکسی متیل سلولز کاهش حلالیت آب را نشان داد که می‌تواند به‌دلیل برهمکنش‌های هیدروژن بین مولکولی بین گروه‌های آب‌دوست موجود در کربوکسی متیل سلولز –ژلاتین رخ دهد (Vargas_Torrico *et al*., 2022). با افزودن غلظت عصاره حلالیت کاهش یافت کاهش حلالیت در آب با توجه به برهمکنش پیوندهای هیدروژنی بین گروه‌های OH در زنجیره کربوکسی متیل سلولز –ژلاتین و گروه هیدروکسیل فنلی پلی‌فنل‌ها در عصاره کندل می‌باشد. بنابراین، گروه‌های آبدوست در زنجیره پلیمر و پلی‌فنل‌های موجود در اسانس پیوندهای هیدروژنی تشکیل دادند که ظرفیت گروه‌های OH برای برهمکنش با مولکول‌های آب را کاهش داد و حلالیت آب فیلم‌های مخلوط را کاهش داد. به‌طور کلی، فیلم‌هایی با حلالیت کم در آب برای کاربردهای بسته‌بندی مواد غذایی توصیه می‌شود پیوندهایی که ظرفیت گروه‌های OH، برهمکنش با مولکول‌های آب را کاهش داده و حلالیت فیلم‌های مخلوط را در آب کاهش می‌دهند. از طریق کاهش نفوذ آب و رطوبت، این فیلم‌ها به‌طور مؤثری طراوت محصول را حفظ می‌کنند، از واکنش‌های اکسیداتیو جلوگیری می‌کنند و رشد میکروبی را مسدود می‌کنند (Moghadam *et al*., 2021).

بنابراین داده‌های حاصل از سنجش میزان حلالیت، گویای این امر هستند که فیلم کربوکسی متیل سلولز–ژلاتین در نتیجه‌ی ترکیب شدن با عصاره نسبت به فیلم خالص آن ۷٪ کاهش در میزان حلالیت داشته است.

اندازه‌گیری نفوذپذیری نسبت به آب به‌دلیل نیاز به حفاظت از محیط و غذا و مانع در برابر بخار آب، در فیلم‌های نگهداری مواد غذایی فاکتور مهم و تعیین کننده‌ای در انتخاب فیلم می‌باشد. نفوذپذیری آب مقادیر افزایشی متناسب با غلظت عصاره اضافه شده به محلول تشکیل دهنده فیلم بود. نفوذپذیری بالا را می‌توان با فرآیندهای جذب، انتشار و دفع توضیح داد، جایی که پلیمرهای دارای طبیعت آبدوست عبور می‌کنند و ممکن است آن پارامتر را افزایش دهند (Xue *et al*., 2020).

این پدیده شامل جذب و انحلال بیوپلیمرها و به دنبال آن انتشار مولکول‌های آب در ماتریکس و دفع یا تبخیر (فاز خشک شدن) مولکول‌های آب در سطح فیلم است. نفوذپذیری در تمام غلظت‌ها افزایش معنی‌دار داشت ($p<0/05$). بیشترین نفوذپذیری در غلظت ۳/۲۵٪ فیلم ترکیبی بود. در مطالعه حاضر، غلظت بیوپلیمرها، نرم کننده و آب یکسان بود. بنابراین، افزایش نفوذپذیری ناشی از غلظت عصاره افزایشی بود. افزودن عصاره‌های طبیعی به ترکیب ژلاتین –کربوکسی متیل سلولز به‌دلیل اتصال متقاطع با مولکول‌های فعال زیستی، در دسترس بودن گروه‌های OH ماتریکس ژلاتین–کربوکسی متیل سلولز را کاهش می‌دهد. دو و همکاران (Dou *et al*., 2018) دریافتند که نفوذپذیری در فیلم‌های ژلاتین تحت تأثیر ترکیب عصاره‌های گیاهی قرار می‌گیرد، زیرا یک ساختار شبکه‌ای متراکم بین پلیمرها و عصاره تشکیل می‌شود و در نتیجه نفوذپذیری را کاهش می‌دهد، که با مطالعات ما مغایرت داشت در مطالعه دیگری، مالهربی و همکاران (Malherbi *et al*., 2019) دریافت که نفوذپذیری در فیلم‌های ژلاتینی با خمیر عصاره گابیرا نتایج متغیری در رابطه با غلظت اسانس اضافه شده داشت. نتایج مطالعه حاضر تأیید کرد نفوذپذیری در فیلم‌های ژلاتینی با نسبت عصاره اضافه شده به محلول مرتبط است. بنابراین، با افزایش مقدار عصاره، نواحی ناهمگن تولید شده توسط فعل و انفعالات ژلاتین–کربوکسی متیل سلولز حاوی عصاره کندل افزایش می‌یابد، که باعث ناپیوستگی در شبکه پلیمری می‌شود.

کدورت معیاری است جهت سنجش شفافیت فیلم‌هاست که هرچه کدورت بالاتر باشد شفافیت کمتر است. شفافیت فیلم‌های فعال به‌دلیل تأثیر آن بر ویژگی‌های ممانعت‌کنندگی نور و ظاهر فیلم‌های بسته‌بندی، می‌باشد که نقشم مهمی در بسته‌بندی موادغذایی ایفا می‌کند (Alizadeh, 2021). ادغام عصاره کندل در فیلم ترکیبی ژلاتین و کربوکسی متیل سلولز باعث تغییرات قابل توجهی ($P < 0/05$) در مقادیر عبور نور و کدورت با توجه به غلظت عصاره شد (جدول ۱). در فیلم ترکیبی با افزایش غلظت تا (٪ ۱/۵) از ۰/۲۱ به ۰/۸۴ نانومتر افزایش یافت. رنگ فیلم‌های کنترل، بی رنگ و شفاف است، می‌تواند رنگ خود را با حداقل غلظت افزودنی تغییر دهد. در این مورد، تغییرات مشاهده شده در پارامترهای رنگ عمدتاً به حضور ترکیبات فنلی در عصاره کندل نسبت داده شود که پس از ادغام یک رنگ قهوه‌ای تغییر رنگ می‌دهد (Li *et al*., 2021). در غلظت (٪ ۳/۵) کدورت کاهش یافت، این کاهش می‌تواند در نتیجه جذب نور توسط ترکیبات فنولی موجود درعصاره کندل باشد. در این راستا، علیزاده ثانی و همکاران (Alizadeh Sani *et al*., 2022) گزارش کردند که افزودن عصاره زعفران و توت قرمز باعث کاهش قابل توجه شفافیت فیلم‌های بر پایه ژلاتین/کاپا کاراگینان شدند. در تطابق با یافته‌ها احمد و همکاران

(Ahmed *et al*., 2016) گزارش کردند که با افزایش درصد اسانس ترنج و اسانس پوتار میزان عبور نور از فیلم‌ها و کدورت کاهش یافت. همچنین در افزودن عصاره‌ها به‌دلیل مهاجرت مقداری از عصاره‌ها به سطح فیلم حین خشک کردن میزان پراکندگی نور افزایش و کدورت کمتر شد. این نتایج با نتایج داده‌ها درکاهش شفافیت در فیلم‌های ترکیبی و فیلم‌های حاوی اسانس با گزارش می و همکاران (Ma *et al*., 2016) در استفاده از امولسیون روغن سویا و اسانس دارچین در فیلم کیتوزان و اثر اسیدهای چرب و اسانس گیاهی برتن و همکاران (Bertan *et al*., 2005) روی فیلم‌های کامپوزیتی برپایه ژلاتین مشابهت داشت.

ضخامت به غلظت مواد، مقدار محلول اولیه در واحد سطح و سرعت ریختن روی سطح و همچنین تحت تأثیر افزودن ترکیبات مختلف نظیر امولسیفایرها، پلاستیسایزرها و و نیز افزودنی‌هایی مثل اسانس‌ها است. همانطور که در جدول ۲ نشان داده شده، ضخامت فیلم‌ها در تمامی غلظت‌ها بجز غلظت (۳/۲۵٪) معنی‌دار است (p<۰/۰۵). ضخامت فیلم‌های بر پایه ژلاتین- کربوکسی متیل سلولز رابطه مستقیمی با میزان محتوی جامد فیلم دارد. ضخامت فیلم‌ها از ۰/۲۱ تا ۰/۱۲ میلی‌لیتر متفاوت است. فیلم ژلاتین -کربوکسی متیل سلولز خالی (شاهد) ٪ دارای بیشترین میزان ضخامت بود. ۰/۲۱ میلی‌متر که این مقدار با افزودن غلظت تا (۱/۵٪) کاهش داشت. علت این کاهش ضخامت را می‌توان به اشباع شدن محلول و ایجاد منافذ و درنتیجه شکنندگی در ساختار فیلم ترکیبی همراه با عصاره می‌باشد که این نتایج با نتایج که توسط احمد و همکاران (Ahmed *et al*., 2016) گزارش شده است مغایرت داشت آنها طی آزمایشاتی که بر روی فیلم‌های ژلاتینی با عصاره ترنج و روغن بادرنجوبه داشتند در ابتدا یک اختلال در زنجیره‌های پلی‌پپتیدی ژلاتین با حضوراسانس مشاهده کردند. سپس، این پلی‌پپتیدها به‌دلیل ماهیت آبدوست عصاره قادر به برهمکنش و ایجاد پیوند با ترکیبات فنلی بودند که منجر به ساختاری با اندازه بزرگتر شد. لازم به ذکر است که ضخامت لایه‌ها با ترکیب عوامل خارجی مرتبط با محلول بیوپلیمری افزایش می‌یابد زیرا در غیر این صورت، عامل می‌تواند محلول را اشباع کند و در نتیجه ساختارهای نازک، شکننده و با ذرات غیر محلول ایجاد کند (Xue *et al*., 2021).

جدول ۲- خواص فیزیکی فیلم‌های خوراکی

Table 2- Physical properties of edible films

تیمار Treatment	حلالیت Solubility (%)	نفوذپذیری Permeability ($gm^{-1}s^{-1}pa^{-1}$)	کدورت Turbidity	ضخامت Thickness (mm)
0%	13.8±0.55[a]	1.6±0.2[d]	0.21±0.02[c]	0.21±0.83[a]
0.75٪	10.8±0.56[b]	2.5±0.2[c]	0.24±0.02[c]	0.18±0.45[b]
1.5٪	8.4±0.75[c]	4.3±0.2[a]	0.84±0.04[a]	0.12±0.01[c]
3.25٪	6.01±0.57[d]	3.56±0.21[b]	0.31±0.02[b]	0.12±0.42[c]

نتایج به‌صورت میانگین ± انحراف استاندارد در سه تکرار گزارش شده است. حروف متفاوت در هر ردیف نشان دهنده تفاوت معنی‌داری در سطح ۵ درصد (p< 0.05) است.

The results in the table have reported as mean ±standard deviation of triplicate analysis. Different words in the same row represent significant difference at 5 % (p< 0.05).

آزمون مکانیکی

خصوصیات مکانیکی پلیمرهای مرکب از جمله خصوصیاتی است که به میزان برهمکنش‌ها در سطح مشترک ترکیبات بستگی دارد. بطور کلی، برقراری برهمکنش‌های مناسب میان ترکیبات، سبب بهبود معنی‌دار در ویژگی‌های مکانیکی فیلم‌ها می‌شود (Brindle & Krochta, 2008).

تأثیر عصاره‌ها بر خواص مکانیکی فیلم‌ها به شدت به ویژگی‌های عصاره و ظرفیت آن برای تعامل با بیوپلیمر بستگی دارد (Pereda *et al*., 2012).

نتایج حاصل از آزمون‌های مکانیکی ترکیب فیلم ژلاتین با اثرات متقابل غلظت‌های مختلف عصاره‌ها در جدول ۳ آمده است. نتایج آنالیز آماری اختلاف معنی‌داری از آزمون‌های افزایش طول در نقطه شکست، مقاومت کششی و مدول یانگ را در تیمارهای جدول ۲ نشان داده است (p<۰/۰۵). میزان افزایش طول تا نقطه شکست (کشش‌پذیری) در عدم حضور غلظت عصاره کندل کوهی حداقل مقدار (۲۷٪) را دارا می‌باشد و با افزایش غلظت عصاره کندل کوهی تا (۱/۵٪) در محیط این پاسخ به بیشترین مقدار خود (۳۷٪) می‌رسد که می‌تواند به‌دلیل افزایش پیوندهای ساختاری بهتر و هم جهت با ملکول ژلاتین باشد که باعث جذب آب بیشتر و پیوند هیدروژنی قوی‌تر در ساختار پروتئین ژلاتین و بر همکنش مناسب بین مولکولی قوی و افزایش اتصالات عرضی بین این پلیمر ژلاتین-کربوکسی متیل سلولز می‌باشد (Nazmi & Sarbon, 2020؛ Govindappa *et al*., 2011).

ولی با افزایش غلظت عصاره از (۱/۵٪) تا (۳/۲۵ ٪) این مقدار به (۲۸٪) کاهش یافت. به‌دلیل توزیع ذرات همگن‌تر و ساختار محکم‌تر و فشرده‌تر

شده و ایجاد پیوندهای هیدروژنی درون مولکولی بجای پیوندهای هیدروژنی بین مولکولی میزان درصد افزایش طول کاهش می‌یابد. درصد کشش‌پذیری هم با افزایش غلظت عصاره تا (۱/۵٪) افزایش معنی‌داری مشاهده شد. و بیشترین درصد کشش مربوط به غلظت (۱٪/۵) با ۷/۴۷ مگاپاسگال مشاهده شد. ولی با افزایش بیشتر عصاره در غلظت (۳/۲۵٪) به ۶/۶۶ مگا پاسگال کاهش یافت. در همه نمونه‌ها پلاستی سایزر روغنی باعث افزایش حجم آزاد در نمونه می‌گردد و باعث افزایش کشش‌پذیری فیلم ژلاتین می‌گردد. این کاهش می‌تواند به‌دلیل غلظت بالای ترکیبات فنلی باشد که ساختاری ناهمگن با مناطق ناپیوسته در فیلم ایجاد می‌کند. این نتایج با نتایج گزارش شده توسط کچو و همکاران (Kchaou *et al*., 2020) مطابقت دارد. آنها نشان دادند که خواص مکانیکی با ادغام اسانس‌های طبیعی در مقادیر بیشتر از محلول اشباع یا هنگام ایجاد ناسازگاری با ماتریس پلیمرهای زیستی کاهش می‌یابد زیرا باعث کاهش چگالی برهمکنش‌های بین مولکولی و افزایش حجم بین زنجیره‌های ژلاتینی آزاد می‌شود. که باعث شکنندگی فیلم‌ها می‌شود. افزایش مدول یانگ احتمالاً به این دلیل است که پلاستی سایزر روغنی گلیسرول باعث ویژگی الاستیسیته فیلم گردند که باعث افزایش تغییرات طولی نسبت به تغییرات عرضی در زنجیره و ترکیبات می‌گردند. این مدول همچنین تحت تأثیر توزیع و چگالی فعل و انفعالات درون و بین ملکولی در ساختار فیلم ترکیبی است. ماهیت روغنی گلیسرول و نسبت سطح به حجم بالای آن در غلظت (۱/۵٪)، باعث افزایش حجم فضای خالی بین زنجیره‌ها می‌شود و مدول یانگ زیاد می‌شود.

جدول ۳- خواص مکانیکی فیلم‌های‌خوراکی

Table 3- mechanical properties of edible films

تیمار Treatment	درصد کشش Tensil strength (Mpa)	ازدیاد طول در نقطه شکست Elongation at break (٪)	مودل یانگ Young modulous (Mpa)
0%	3.2±0.61[c]	27.35±1.02[c]	64.76±0.2[c]
%0.75	5.4±0.36[b]	31.54±0.76[b]	88.71±1.22[a]
%1.5	7.47±0.37[a]	37.1±2.24[a]	93.43±2.6[a]
%3.25	6.66±0.28[a]	28.76±0.65[c]	73.63±4.2[b]

نتایج به‌صورت میانگین ± انحراف استاندارد در سه تکرار گزارش شده است. حروف متفاوت در هر ردیف نشان دهنده تفاوت معنی‌داری در سطح ۵ درصد ($p< 0.05$) است.

The results in the table have reported as mean ±standard deviation of triplicate analysis. Different words in the same row represent significant difference at 5 % ($p< 0.05$).

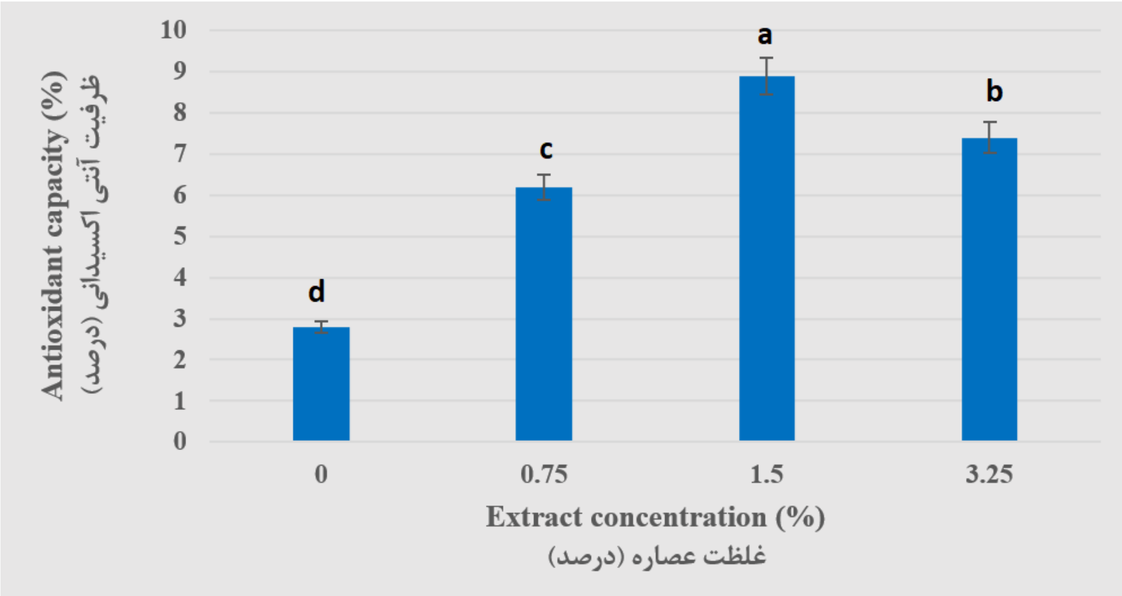
فعالیت آنتی‌اکسیدانی

شکل ۱ نمودار حاصل از فعالیت آنتی‌اکسیدانی تیمارها در غلظت‌های مختلف عصاره کندل را نشان می‌دهد که در تمامی غلظت‌ها به‌صورت معنی‌دار بوده و با افزایش درصد عصاره، قدرت مهار رادیکال تیمارها نسبت به فیلم شاهد به‌صورت معنی‌داری افزایش یافت ($p<0.05$). *Dorema aucher*i سرشار از فلاونوئیدها است (Mokhtari *et al*., 2008).

فلاونوئیدها گروه بزرگی از ترکیبات پلی‌فنلی را تشکیل می‌دهند که دارای خواص آنتی‌اکسیدانی هستند و عصاره کندل دارای خوص آنتی‌اکسیدانی می‌باشد (Yazdi *et al*., 2015 ؛ Miraghaee & Karimi, 2012).

کمترین و بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی به‌ترتیب در فیلم شاهد ۲/۶ و فیلم ترکیبی در غلظت (۱/۵٪) عصاره کندل ۹/۱۴ به‌دلیل فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره گیاه کندل می‌باشد. فیلم خوراکی ژلاتینی نسبت به کربوکسی متیل سلولز در کنترل اکسیداسیون دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی بالاتری می‌باشد. دلیل اثرگذاری بیشتر پوشش پروتئینی نسبت به کربوهیدراتی را می‌توان نفوذپذیری پایین پوشش‌های پروتئینی از جمله ژلاتین در برابر نفوذ اکسیژن دانست که این امر نیز ناشی از شبکه‌ی منظم و منسجم می‌باشد که بهترین عملکرد را در کنترل اکسیداسیون دارد (Baldwin, 2007). حضور کربوکسی متیل سلولز بعنوان یک عامل پیوند عرضی باعث ایجاد انسجام بیش تر در ساختار و متعاقباً عملکرد بهتر پوشش شد (Li *et al*., 2021 ؛ Leonardis, 2010).

مشابه با نتایج ما سای چین و همکاران (Sui Chin *et al*., 2017) گزارش دادند که افزودن ژل آلوئه ورا به فیلم بر پایه ژلاتین منجر به فعالیت آنتی‌اکسیدانی فیلم شد، که با افزایش غلظت آلوئه ورا این فعالیت افزایش می‌یابد. فعالیت آنتی‌اکسیدانی آلوئه ورا مرتبط با ترکیبات فنولی موجود در این ژل می‌باشد. علاوه بر این، اسانس رزماری گنجانده شده در فیلم کیتوزان دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی بود که این فعالیت رابطه مستقیمی با افزایش غلظت اسانس رزماری داشت (Souza, 2019). با افزودن غلظت (۳/۲۵٪) خاصیت آنتی‌اکسیدانی حاوی فیلم عصاره کندل، کاهش یافت که دلیل این امر را می‌توان افزایش انسجام ساختاری، کاهش میزان ترکیبات فنولی آزاد شده از فیلم، در حین اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی بیان کرد.



شکل ۱- خواص آنتی‌اکسیدانی تیمارهای فیلم‌های ژلاتین-کربوکسی متیل سلولز با غلظت‌های مختلف عصاره کندل

Fig. 1. Antioxidant properties of gelatin (GEL) and Carboxymethyl cellulose (CMC) films with different concentrations of *Dorema aucheri* extract

فعالیت ضد میکروبی

توانایی مهار یا جلوگیری از فساد یا رشد میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا روی مواد غذایی یکی دیگر از ویژگی‌های مهم مواد بسته‌بندی فعال است (Tavassoli *et al.*, 2021).

فعالیت ضد میکروبی فیلم ها در تمام تیمارهای دارای عصاره کندل در برابر هر سه گونه مورد آزمایش باکتری *اشریشیاکلی*، *استافیلوکوکوس اورئوس* و *پسودوموناس* در شکل ۲ نشان داده شده است.

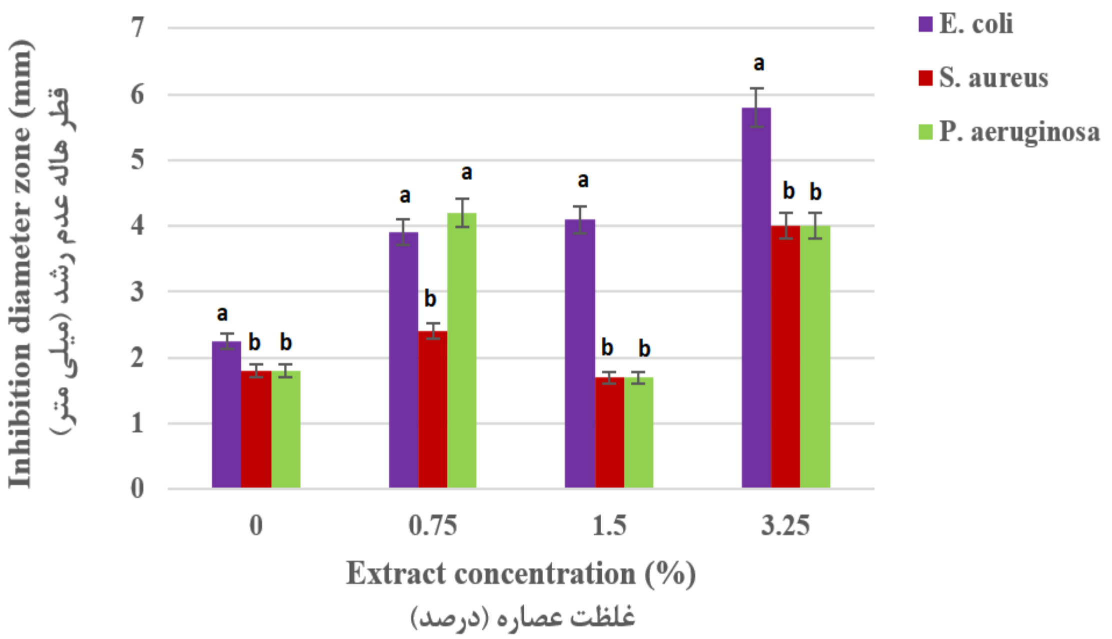
اثر غلظت‌های مختلف عصاره کندل جهت کاهش یا جلوگیری از رشد میکروارگانیسم‌های *اشریشیاکلی*، *استافیلوکوکوس اورئوس* و *پسودوموناس* به روش انتشار آگار مورد بررسی قرار گرفت. فیلم ژلاتین -کربوکسی متیل سلولز بدون عصاره (شاهد) اثر بازداری ضعیفی را در برابر میکروارگانیسم‌های مورد بررسی نشان دادند. با افزودن عصاره کندل به فیلم بر پایه ژلاتین–کربوکسی متیل سلولز، باعث فعالیت آنتی‌باکتریال قابل توجه فیلم شد. افزایش غلظت عصاره اثر معنی‌داری بر افزایش قطر هاله عدم رشد میکروارگانیسم‌های مورد بررسی داشت ($p<0.05$). بیشترین میزان مهار رشد در هر سه گونه باکتریای *سودوموناس آئروژنز* و *اشریشیاکلی* و باکتری *پسودوموناس* در تیمار (٪ ۳/۲۵) بود. بیشترین مهار رشد در این غلظت مربوط به باکتری *اشرشیاکلی* ۵/۳۳ و *استافیلوکوکس اوروئوس و سودوموناس* هم اثر مهار رشد در این غلظت ۴ و ۳/۹۹ بود.

عصاره‌های گیاهی و ترکیبات مؤثر آن‌ها در برابر انواع گسترده‌ای از میکروارگانیسم‌ها شامل باکتری‌های گرم منفی و گرم مثبت فعال شناخته شدند. هر چند در برخی بررسی‌ها باکتری‌های گرم مثبت مقاومتی مانند باکتری‌های گرم منفی نشان دادند (Oussalah, 2007). خاصیت مهارکنندگی بیشتر اسانس‌های مورد مطالعه بر روی باکتری‌های گرم مثبت نسبت به گرم منفی می‌تواند به علت اتصال گروه‌های هیدروکسیل ترکیبات فنلی موجود در عصاره به گروه N استیل گلوگز آمین موجود در دیواره سلولی باکتری‌های گرم مثبت باشد و مقاومت بیشتر باکتری‌های گرم منفی به عصاره ممکن است؛ به علت وجود لیپوپلی ساکاریدهای غشاء بیرونی باکتری‌های گرم منفی نسبت داده شود که ذاتاً به عوامل خارجی مانند آنتی بیوتیک‌ها و شوینده‌ها مقاوم‌اند (Coa *et al.*, 2007؛Elansary *et al.*, 2020).

فعالیت ضد میکروبی محلول ژلاتینی بیشتر به علت وجود زنجیره الیگوپپتیدی حاصل از آب کافت ژلاتین می‌باشد. با افزایش غلظت پوشش در محلول پوشش‌دهی خاصیت ضد میکروبی افزایش یافت که احتمالا به‌دلیل افزایش ضخامت فیلم تشکیل شده روی سطح عصاره کندل و اثر ممانعتی قوی‌تر آن به نفوذ اکسیژن می‌باشد. عصاره *Dorema aucheri* نیز دارای فعالیت ضدمیکروبی می‌باشد (Ahangarpour *et al.*, 2014).

الانساری و همکاران (Elansary *et al.*, 2020) اثر ضدمیکروبی شش گیاه از گونه *Ferocactus* را روی پنج باکتری *باسیلوس سرئوس*، *اشریشیا کلی*، *لیستریا مونوسیتوژنز*، *مارینیلوتای کوکوس فلاووس* و

استافیلوکوکوس اورئوس بررسی کردند که نشان‌دهنده اثر ضدمیکروبی قابل توجه عصاره این گونه‌ها بر دو باکتری *اشریشیاکلی* و *استافیلوکوکوس اورئوس* در مقایسه با سایر باکتری‌ها بود که با نتایج ما مطابقت داشت (Elansary *et al.*, 2020). همچنین احمد و همکاران (Ahmad *et al.*, 2016) تأثیر فیلم بیونانوکامپوزیت کربوکسی متیل سلولز/کیتوزان/ اکسید روی را بر افزایش عمر پنیر سفید نرم مصری مورد مطالعه قرار دادند. نتایج مطالعه نشان داد فیلم تولیدی فعالیت ضدمیکروبی خوبی در برابر باکتری‌های گرم مثبت (*استافیلوکوکوس اورئوس*) گرم منفی (*سودوموناس آئروژینوزا، اشرشیا کلی*)، قارچ‌ها (*کاندیدا آلبیکنس*) داشته است (Ahmad *et al.*, 2016).



شکل ۲- فعالیت ضدمیکروبی فیلم‌های ژلاتین- کربوکسی متیل سلولز با تیمارهای مختلف عصاره کندل

Fig. 2. Antimicrobial activity of gelatin GEL and of gelatin (GEL) and Carboxymethyl cellulose (CMC) films with different concentrations of *Dorema aucheri* extract

این با یافته‌های محمود و نایمل (Begum, *et al.*, 2018) مطابقت دارد که اسانس‌ها را به‌عنوان ترکیبات ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی و افزودنی‌های طبیعی می‌توان در مواد بسته‌بندی به کار برد تا از آلودگی میکروبی محصول جلوگیری کند و در نتیجه ماندگاری آن را افزایش دهد.

نتیجه‌گیری

نتیجه آزمایش‌های انجام شده بر روی فیلم خوراکی ژلاتین-کربوکسی متیل سلولز نشان داد که مقادیرحلالیت و نفوذپذیری و ضخامت فیلم-های ژلاتین-کربوکسی متیل سلولزحاصل معنی‌دار بود (p<۰/۰۵). کمترین حلالیت و ضخامت در تیمار شاهد مشاهده شد. بیشترین نفوذپذیری و کدورت در تیمار ۱،۵ درصد اسانس *Dorema aucheri* مشاهده شد میزان حلالیت با افزایش میزان عصاره کندل کاهش یافت و نفوذپذیری به رطوبت تمامی تیمارها بجز تیمار (۱/۵٪) که کاهش یافت با افزایش میزان عصاره کندل به طور معنی‌داری افزایش یافت. افزایش طول تا نقطه شکست، مقاومت به کشش و مدول یانگ در تمامی تیمارها بجز غلظت (۱/۵٪) افزایش غلظت عصاره کندل در محیط از لحاظ آماری معنی‌دار بود (p<۰/۰۵). فعالیت آنتی‌اکسیدانی در همه غلظت‌ها معنی‌دار بود و بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی مربوط به غلظت (۱/۵٪) بود. همچنین بیشترین تأثیر در فعالیت ضدمیکروبی در *اشرشیاکلی، استافیلوکوکوس اورئوس پسودوموناس* در غلظت (۳/۲۵٪) مشاهده شد. به‌طور کلی می‌توان نتیجه گرفت فیلم‌های فعال ژلاتین-کربوکسی متیل سلولز در حضور غلظت (۱/۵٪) عصاره کندل، بالاترین کارایی و ویژگی‌های مطلوب را دارد و می‌توانند با تأخیر در

اکسیداسیون لیپیدها، خواص مکانیکی و فیزیکوشیمیایی مطلوب، به‌عنوان یک پوشش مناسب برای محافظت مواد غذایی استفاده گردند.

تعارض منافع

نویسندگان اعلام می‌کنند که هیچ تعارض منافعی ندارند.

میزان مشارکت نویسندگان

سارا پناهی، امیر حسین کریم زاده: انجام آزمایشات، تحقیق و بررسی، **محمدیارحسینی:** مدیریت داده ها، نوشتن-پیش‌نویس اصلی، نظارت، **الهام احمدی:** مدیریت داده‌ها، نوشتن-پیش‌نویس داده‌ها، **حامد حسن زاده:** سرپرستی پروژه و طراحی آزمون

منابع تأمین مالی

این تحقیق هیچ کمک مالی خاصی در بخش‌های عمومی، تجاری یا غیر انتفاعی دریافت نکرد.

سپاسگزاری

بدین‌وسیله از آزمایشگاه مرکزی ایلام جهت همکاری و حمایت از این پژوهش تشکر و قدردانی می‌شود.

References

1. Abdollahi, S., & Raoufi, Z. (2022). Gelatin/Persian gum/bacterial nanocellulose composite films containing Frankincense essential oil and *Teucrium polium* extract as a novel and bactericidal wound dressing. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, *72*, 1-8. https://doi.org/10.1016/j.jddst.2022.103423
2. Ahangarpour, A., Teymuri Zamaneh, H., Jabari, A., Nia, H.M., & Heidari, H. (2014). Antidiabetic and hypolipidemic effects of *Dorema aucheri* hydroalcoholic leave extract in streptozotocinnicotinamide induced type 2 diabetes in male rats. *Iran Journal Basic Medical Science*, *17*, 808-14. https://doi.org/10.22038/ijbms.2014.3458
3. Ahmed, A., Youssef, MS., EL-Sayedb, K., Hoda, Z., Sayed, A., & Dufresnec, A. (2016). Enhancement of Egyptian soft white cheese shelf life using a novel chitosan/carboxymethyl cellulose/zinc oxide bionanocomposite film. *Carbohydrate Polymers*, *151*, 9-19. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.05.023
4. Ahmad, M., Benjakul, S., Prodpran, T., & Agustini, TW. (2012). Physico-mechanical and antimicrobial properties of gelatin film from the skin of unicorn leatherjacket incorporated with essential oils. *Food Hydrocolloids*, *28*(1), 189-199. https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2011.12.003
5. Alizadeh Sani, M., Tavassoli, M., Salim, S.A., Azizi-lalabadi, M., & McClements, DJ. (2022). Development of green halochromic smart and active packaging materials: TiO_2 nanoparticle- and anthocyanin loaded gelatin/κ-carrageenan films. *Food Hydrocolloids*, *124*, 107324. https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2021.107324
6. Baldwin, E.A. (2007). Surface treatments and edible coatings in food preservation. In: Rahmanm M.S. (ed.), Handbook of Food Preservation, Boca Raton. CRC Press, Florida- USA. Baldwin, E. & Wood, B., 2006, Use of edible coating to preserve pecans. https://doi.org/10.1201/9781420017373.ch21
7. Begum, T., Mahmud, J., Naimul Islam, M.D., & Khan, R.A. (2018). Essential oils and biodegradable packaging materials: Application on food preservations. *Scientific Review*, *5*(1), 1–7. https://doi.org/10.32861/sr.51.1.7
8. Bertan, L., Tanada-Palmu, P., Siani, A., & Grosso, C. (2005). Effect of fatty acids and 'Brazilian elemi 'on composite films based on gelatin. *Food Hydrocolloids*, *19*(1), 73-82. https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2004.04.017
9. Biswal, D.R., & Singh, R.P. (2004). Characterization of carboxymethyl cellulose and polyacrylamide graft copolymer. *Carbohydrate Polymers*, *57*(4), 379–387. https://doi.org/10.1016/j.carbp ol.2004.04.020
10. Brindle, L.P., & Krochta, J.M. (2008). Physical properties of whey protein hydroxy propylmethylcellulose blend edible films. *Journal of Food Science*, *73*(9). https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2008.00941.x
11. Cao, N., Fu, Y., & He, J. (2007). Mechanical properties of gelatin films cross linked, respectively, by ferulic acid and tannin acid. *Food Hydrocolloids*, *21*(4), 575–584. https://doi.org/10.1016/j.foodh yd.2006.07.001
12. Dehnad, D. (2015). Physical and mechanical properties in biodegradable films of whey protein concentrate–pullulan by application of beeswax. *Carbohydrate Polymers*, *118*, 24-29. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2014.11.015
13. Dicka, M., Costaa, T.M.H., Gomaa, A., Subirade M, Riosa, A.D.O., & Flôresa, S.H. (2015). Edible film production from chia seed mucilage: Effect of glycerol concentration on its physicochemical and mechanical properties. *Carbohydrate Polymers*, *130*, 198-205. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.05.040
14. Dou, L., Li, B., Zhang, K., Chu, X., & Hou, H. (2018). Physical properties and antioxidant activity of gelatin-sodium alginate edible films with tea polyphenols. *International Journal of Biological Macromolecules*, *118*(B), 1377-1383. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.06.121
15. Eftekhari, Oskou F., Tofighi, Z., Motevaseli, E., & Jafari Nodooshan, Sh. (2019). MRAlert for Consumption of *Dorema aucheri*: an Edible. *Medicinal Plant of Iran*, 75-84.

16. Ekrami, M., Emam-Djomeh, Z., Ghoreishy, S.A., Najari, Z., & Shakoury, N. (2019). Characterization of a high-performance edible film based on Salep mucilage functionalized with pennyroyal (*Mentha pulegium*). *International Journal Biology Macrom*, *133*, 529-537. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.04.136
17. Elansary, H.O., Szopa, A., Klimek-Szczykutowicz, M., Ekiert, H., Barakat, AA., & Al-Mana, F.A. (2020) Antiproliferative, antimicrobial, and antifungal activities of polyphenol extracts from *Ferocactus* species. *Processes*, *8*(2), 138. https://doi.org/10.3390/pr8020138
18. Fernando, A.L. (2019). Activity of chitosan montmorillonite bionanocomposites incorporated with rosemary essential oil: From in vitro assays to application in fresh poultry meat. *Food Hydrocolloids 89*, 241–252. https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.10.049
19. Govindappa, M., Channabasava, S.Ts, R., Mk, J., Ks, P., & Raghavendra, V.B. (2011). Antioxidant activity and phytochemical screening of *Tecoma stans* (L.) Juss. ex Kunth. *Journal of Phytology*, *3*(3), 68-76. https://doi.org/10.5897/AJMR12.2274
20. Gulluce, M., Sahin, F., Sokmen, M., Ozer, H., Daferera, D., Sokmen, A., Polissiou, M., Adiguzel, A., & Ozkan, H. (2007). Antimicrobial and antioxidant properties of the essential oils and methanol extract from *Mentha longifolia* L. ssp. *longifolia*. *Food Chemistry*, *103*(4), 1449-56. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.10.061
21. Hosseini, M., Rahimi, Z., & Saifi, T. (2023). Production of edible film based on gelatin containing thyme essential oil: investigation of its physicochemical, mechanical, antioxidant and microbial properties. *Iranian Food Science and Technology*, *20*(135), 129-139. https://doi.org/10.22034/FSCT.19.135.129
22. Jahit, I.S., Nazmi, N.N., M., Isa, M.I.N., & Sarbon, N.M. (2016). Preparation and physical properties of gelatin/CMC/chitosan composite films as affected by drying temperature. *International Food Research Journal*, *23*(3), 1068–1074. https://doi.org/10.26656/fr.2017.4(1).243
23. Kchaou, H., Jridi, M., Benbettaieb, N., Debeaufort, F., & Nasri, M. (2020). Bioactive films based on cuttlefish (*Sepia officinalis*) skin gelatin incorporated with cuttlefish protein hydrolysates: Physicochemical characterization and antioxidant properties. *Food Packaging and Shelf Life*, *24*, 100477. https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2020.100477
24. Khanzadi, M., Jafari, S.M., Mirzaei, H., Chegini, F.K., Maghsoudlou, Y., & Dehnad, D. (2015). Physical and mechanical properties in biodegradable films of whey protein concentrate–pullulan by application of beeswax. *Carbohydrate Polymers*, *118*, 24-29. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2014.11.015
25. Koné, WM., Atindehou, KK., Kacou-N'douba, A., & Dosso, M. (2006). Evaluation of 17 medicinal plants from Northern Côte d'Ivoire for their in vitro activity against *Streptococcus pneumoniae*. *Afr Journal Tradit Complement Altern Medical*, *4*(1), 17-22. https://doi.org/10.4314/ajtcam.v4i1.31187
26. Leonardis, M., Palange, A., FV Dornelles, R., & Hund, F. (2010). Use of cross-linked carboxymethyl cellulose for softtissue augmentation, preliminary clinical studies. *Journal of Clinical Interventions in Aging*, *5*, 317–322. Department of Plastic Surgery, Salvator Mundi International Hospital, Roma. https://doi.org/full/10.2147/CIA.S13813
27. Li, N., Jiang, H., Yang, J., Wang, C., Wu, L., Hao, Y., & Liu, Y. (2021). Characterization of phenolic compounds and anti-acetylcholinase activity of coconut shells. *Food Bioscience*, *42*, 101204. https://doi.org/10.1016/j.fbio.2021.101204
28. Liu, Z., Ge, X., Dong, S., Zhao, Y., & Zeng, M. (2012). Effects of chitosan molecular weight and degree of deacetylation on the properties of gelatine-based films. *Food Hydrocolloids*, *26*, 311-317. https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2011.06.008
29. Malherbi, N.M., Schmitz, A.C., Grando, R.C., Bilck, A.P., Yamashita, F., Tormen, L., Fakhouri, F.M., Velasco, J.I., & Bertan, L.C. (2019). Corn starch and gelatin-based films added with guabiroba pulp for application in food packaging. *Food Packaging and Shelf Life*, *19*, 140-146. https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2018.12.008
30. Ma, Q., Zhang, Y., Critzer, F., Davidson, P., Zivanovic, S., & Zhong, Q. (2016). Physical, mechanical, and antimicrobial properties of chitosan films with microemulsions of cinnamon bark oil and soybean oil. *Food Hydrocolloids*, *52*, 533-542. https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2015.07.036
31. Miraghaee, S.S., & Karimi, I. (2012) Evaluation of the antioxidant and antimicrobial properties of *Dorema aucheri* plant. *Iran. Red Crescent Medicenal Journal*, *14*, 684-5.
32. Moghadam, M., Salami, M., Mohammadian, M., Khodadadi, M., & Emam-Djomeh, Z. (2020). Development of antioxidant edible films based on mung bean protein enriched with pomegranate peel. *Food Hydrocolloids*, *104*, 1-8. https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.105735
33. Mokhtari, M., Sharifi, A., & Parang, A. (2008). Investigation of *Dorema aucheri* hydroalcoholic extract on hematologic parameters in rats. *Journal of the Zanjan University of Medical Sciences*, *16*, 37-44 http://journal.zums.ac.ir/article-1-382-fa.html
34. Mothana, R.A., Hasson, S.S., Schultze, W., Mowitz, A., & Lindequist, U. (2011). Phytochemical composition and in vitro antimicrobial and antioxidant activities of essential oils of three endemic Soqotraen *Boswellia* species. *Food Chemistry*, *126*(3), 1149-54. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.11.150

35. Nazmi, N.N.M., & Sarbon, N.M. (2020). Characterization on antioxidant and physical properties of gelatin based composite films with incorporation of *Centella asiatica* (Pegaga) extract. *Food Research, 4*(1), 224-233. https://doi.org/10.3390/membranes12050442
36. NurHanani, Z.A., Roos, Y.H., & Kerry, J.P. (2012). Use of beef, pork and fish gelatin sources in the manufacture of films and assessment of their composition and mechanical properties. *Food Hydrocolloids, 29*, 144-151. https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2012.01.015
37. Oluwaseun, A.C., Kayode, A., Bolajok, F.O., Bunmi, A.J., & Olagbaju, A.R. (2013). Effect of edible coatings of carboxymethyl cellulose and corn starch on cucumber stored at ambient temperature. *Asian Journal of Agriculture & Biological, 1*(3), 133-140. https://doi.org/10.22067/ifstrj.v12i4.34446
38. Oussalah, M., Caillet, S., Saucier, L., & Lacroix, M. (2007). Inhibitory effects of selected plant essential oils on the growth of four pathogenic bacteria: E coli 0157: H7, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes*. *Food Control*, *18*, 414-420. https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2005.11.009
39. Pereda, M., Amica, G., & Marcovich, N.E. (2021). Development and characterization of edible chitosan/olive oil emulsion films. *Carbohydrate Polymers, 87*(2), 1318-25. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2011.09.019
40. Prakash, B., Mishra, P.K., Kedia, A., & Dubey, N. (2014). Antifungal, antiaflatoxin and antioxidant potential of chemically characterized *Boswellia carterii* Birdw essential oil and its in vivo practical applicability in preservation of *Piper nigrum* L. fruits. *LWT-Food Science and Technology, 56*(2), 240-7. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2013.12.023
41. Roy, S., & Rhim, J.W. (2021). Gelatin/agar-based functional film integrated with Pickering emulsion of clove essential oil stabilized with nanocellulose for active packaging applications. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, *627*, 127220.
42. Shakeri, MS., Shahidi, F., Beiraghi-Toosi, S., & Bahrami, A. (2011). Antimicrobial activity of *Zataria multiflora* Boiss. essential oil incorporated with whey protein based films on pathogenic and probiotic bacteria. *International Journal Food Science Technology, 46*(3), 549-54. (In Persian). https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2021.127220
43. Shakeri, M.S., Shahidi, F., Beiraghi-Toosi, S., & Bahrami, A. (2011). Antimicrobial activity of *Zataria multiflora* Boiss. essential oil incorporated with whey protein based films on pathogenic and probiotic bacteria. *International Journal Food Science Technology, 46*(3), 549-54. (In Persian). https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2010.02519.x
44. Souza, VGL., Pires, JRA., Vieira, ÉT., Coelhoso, I.M., Duarte, M.P., & Fernando, A.L.(2019). Activity of chitosan montmorillonite bionanocomposites incorporated with rosemary essential oil: From in vitro assays to application in fresh poultry meat. *Food Hydrocolloids 89*, 241–252. https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.10.049
45. Sui Chin, S., Han, Lyn, F., & Nur Hanani, Z.A. (2017). Effect of Aloe vera (*Aloe barbadensis* Miller) gel on the physical and functional properties of fish gelatin films as active packaging. *Food Packaging and Shelf Life, 12*, 128–134. https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2017.04.008
46. Taheri-Behrooz, F., Maher, B.M., & Shokrieh, M. (2015) Mechanical properties modification of a thin film phenolic resin filled with nano silica particles. *Computational Materials Scienc, 96*, 411-5. https://doi.org/10.1016/j.commatsci.2014.08.042
47. Tavassoli, M., Sani, M.A., Khezerlou, A., Ehsani, A., & McClements, D.J. (2021). Multifunctional nanocomposite active packaging materials: Immobilization of quercetin, lactoferrin, and chitosan. *Nanofiber Particles in Gelatin Films, 118*, 106747. https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2021.106747
48. Tongnuanchan, P., Benjakul, S., Prodpran, T., Pisuchpen, S., & Osako, K. (2016). Mechanical thermal and heat sealing properties of fish skin gelatin film containing palm oil and basil essential oil with different surfactants. *Food Hydrocolloids, 56*, 93-107. https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2015.12.005
49. Tongdeesoontorn, W., Mauer, L.J., Wongruong, S., Sriburi, P., & Rachtanapun, P. (2011). Effect of carboxymethyl cellulose concentration on physical properties of biodegradable cassava starchbased films. *Chemistry Central Journal, 5*(1), 1–8. https://doi.org/10.1186/1752-153X-5-6
50. Tongdeesoontorn, W., & Rawdkuen, S. (2019). Gelatin-based films and coatings for food packaging applications. *Modulein Food Science*, 1-15. https://doi.org/10.5772/intechopen.86245
51. Vargas- Torrico, M.F., von Borries- Medrano, E., & Aguilar-Méndez, M.A. (2020). Development of gelatin/carboxymethylcelluloseactive films containing Hass avocado peel extract and their application as a packaging for the preservation of berries. *International Journal of Biological Macromolecules*, *206*, 1012-1025. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2022.03.101
52. Xue, F., Zhao, M., Liu, X., Chu, R., Qiao, Z., Li, C., & Adhikari, B. (2021). Physicochemical properties of chitosan/zein/essential oil emulsion-based active films functionalized by polyphenols. *Future Foods*, *3*, 100033. https://doi.org/10.1016/j.fufo.2021.100033
53. Yazdi, F.T., Behbahani, B.A., Vasiee, A., Mortazavi, S.A., & Yazdi, F.T. (2015). An investigation on the effect of alcoholic and aqueous extracts of *Dorema aucheri* (Bilhar) on some pathogenic bacteria in vitro. *Journal Paramed. Science, 6*, 58-64.9.

54. Yoo, S., & Krochta, J.M. (2011). Whey protein– polysaccharide blended edible film formation and barrier, tensile, thermal and transparency properties. *Journal of the Science of Food and Agriculture, 91*(14), 2628–2636. https://doi.org/10.1002/jsfa.4502